



TITLE:

計画7-4 霊長類における神経伝達物質の代謝と脳機能の加齢変化に関する研究(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

中野, 昌俊

CITATION:

中野, 昌俊. 計画7-4 霊長類における神経伝達物質の代謝と脳機能の加齢変化に関する研究(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1995, 25: 77-78

ISSUE DATE:

1995-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164706>

RIGHT:

る嗜好性が一部のサルで認められた。雌ニホンザルでは繁殖期に雄に随伴行動を示し、非繁殖期は同性のサルと行動をともにすることが知られているが、視覚情報だけでこのような雌雄嗜好性に影響を与え得ることが本実験で明らかになった。

計画7-2

ニホンザルの老化にともなう精巣組織の形態的变化

長戸康和・榎本知郎（東海大・医・形態）

ニホンザルオスにおいて、老化に伴う造精機能の変化を形態的に明らかにするため、老齢ザルから精巣組織を採取し、精細管上皮を構成する精細胞とセルトリ細胞の形態について検討した。

精巣組織は、交尾季の老齢オスニホンザルから採取した。本研究では、顕微鏡観察で特定した細胞について、その形態を顕微鏡観察で更に検討するため、同一切片対比観察法を用いた。

試料は、ホルムアルデヒドとグルタルアルデヒドの混合液で固定し、アルコールで脱水後、親水性メタクリル樹脂に包埋した。硬化した樹脂ブロックからは、 $0.3\mu\text{m}$ 程度の切片を作製した。各々の切片には、顕微鏡染色を施し、精細管上皮の中で特徴的な形態的变化が認められる細胞とその位置を確認し、写真撮影を行った。その後更に、同一切片に電子染色を施し、顕微鏡で特定した部位を顕微鏡観察し写真撮影を行った。

その結果、老齢ザルでは精子形成過程における精細胞の規則的な配列（精上皮の周期性）が乱れており、精上皮の周期を構成する各段階（10段階に分けられる）を特定することは困難であった。また、精子形成細胞、精子及びセルトリ細胞に形態的な変化が認められた。

精子形成細胞について：精細胞の中には、先体小胞内に存在する先体顆粒の小型化、電子密度の低下、欠如、先体形成の遅延など、先体形成が不完全な状態である細胞が認められた。

精子の形態について：頭部の核の形態と中部のミトコンドリアに変異が認められた。すなわち、核の形態の不規則に変形や電子密度の低下が観察され、ミトコンドリアも減少しラセン構造が欠如していた。

セルトリ細胞について：セルトリ細胞の基底部には、脂肪滴が細胞質に充満し、セルトリ細胞間

のtight junctionも崩れていた。このことは血液精巣関門が崩壊した像が観察された。これらの結果から、老齢個体では、精子形成に適切な環境が維持されず、精子形成過程に影響を与えていると考えられる。

計画7-4

霊長類における神経伝達物質の代謝と脳機能の加齢変化に関する研究

中野昌俊

（愛知医科大学・加齢医科学研究所）

我々は、霊長類を含む各種哺乳動物を用いた心筋リポフスチン沈着様相の研究から、老化過程の始まりは性成熟期であることを明らかにした。また、脳 microdialysis を用いた研究により、ラット線状体におけるKClで促進されるドパミンの遊離は1.5~2ヶ月齢で最大となり、ドパミン代謝物は2-3ヶ月齢で最大となることを明らかにした。そこで、霊長類マカク属の前頭葉組織片を用いて前頭葉におけるドパミン、ノルアドレナリン、セロトニン含量およびその代謝物の加齢にともなう変動を調べた。

脳（前頭葉）の組織片約0.1gを0.1mM EDTAを含む0.2M PCAでホモジェナイズした。除タンパクをするために氷中30分間放置した後、20,000 $\times g$ で15分間遠心分離して上清を得た。1M酢酸ソーダでpH3に調整した後、前処理フィルターでろ過してHPLC用標品とした。

今年度得られた霊長類の脳組織（前頭葉）は、幼若期（0.5歳；未成熟）、青年期（3歳前後；思春期）の動物がそれぞれ1例および2例であった。前年度（1993年度）は幼若期、青年期、老齢期（20歳前後）の動物がそれぞれ2~3例ずつ得られたので、前年度に得られたデータに加えた結果を報告する。前頭葉における神経伝達物質の変動を調べたところ、幼若期ではノルエピネフリン(NA)、ドパミン(DA)およびセロトニン(5-HT)の含量は低く、それぞれ0.051, 0.078, 0.047 (ng/mg fresh weight；以下同じ単位)であった。青年期ではNA、DA、5-HTは、それぞれ0.116, 0.231, 0.081であった。老齢期ではDAと5-HT含量は0.111, 0.048と著しく低下したが、NAの含量は0.048で、青年期とほとんど変化が認められなかった。これらの結果より、線状体の場合と同様

に前頭葉を支配するドーパミン性神経細胞は、性成熟期に機能が最大となることが強く示唆される。次にドーパミンとノルエピネフリンの代謝回転を調べたところ、幼年期が最も代謝回転が高く、青年期で既に幼年期よりも代謝回転が低く、老年期と著しい差が認められなかった。加齢にともなう神経伝達物質代謝の変動は、例数をさらに増して検討する必要がある。

計画7-5

老齡カニクイザルのB細胞機能

—老齡ザル血清中に出現する自己抗体—

寺尾恵治

(国立予研・筑波霊長類センター)

0歳から20歳以上のカニクイザルについて、血清中の免疫グロブリン含量と血液型に関わる抗A、抗B抗体価の変化を調査したところ、抗体価は4～5歳をピークにしてその後低下しはじめ、老齡ザルではピーク時の70%前後のレベルまで低下した。これに対し、IgG、IgA、IgMの主要免疫グロブリンのレベルは、いずれも6～9歳齢でピークに達するがその後はほとんど変化(低下)しなかった。

次に、代表的な自己抗原である単鎖DNA(ssDNA)とリン脂質の一種、cardiolipin(CL)に対する自己抗体のレベルを老齡ザルと壮年ザルとで比較した。その結果、ssDNAに対する抗核抗体価は老齡ザルでは抗体陽性個体の頻度およびレベルのいずれも壮年ザルに比べて高く、老齡ザルでは自己抗体産成能が昂進していることが明らかとなった。一方、老齡ザルのCLに対する抗体価では、壮年ザルとの差は抗ssDNA抗体ほど顕著でなかった。

ヒトの代表的な自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス(SLE)の患者では、高レベルの抗核抗体や抗リン脂質抗体が高頻度に検出されるとともに、これらの抗体の一部はその物理化学的性状が通常の免疫グロブリンと異なることが報告されている。そこで次に、老齡ザルと壮年ザルとで自己抗体の性状が同一か否かを明らかにするため、老齡ザルと壮年ザルとの血清中に出現する自己抗体の等電点を比較してみた。その結果、壮年ザル血清中の自己抗体の等電点はpH7以上のものが大部分で、酸性域に等電点を持つ自己抗体はほ

とんど検出されないのに対し、老齡ザルでは等電点がpH5.5～6.0のものとpH7以上のものとの2種類の自己抗体が検出された。老化に伴う抗体合成過程の異常で生じたチャージの異なる自己抗体は、自己抗原と反応するだけでなく、自己細胞成分と非特異的に結合する危険性が高い。今後は、老化に伴うB細胞のプログラムミスの機序を明らかにするとともに、異常なチャージを持つ自己反応性の免疫グロブリンの実体と血管上皮細胞への影響を解明してゆくことが必要となる。

計画7-6

ヒヒ連に属するサル細胞のin vitroエイジング

石田貴文(東京大・理)

本研究では、ヒヒ連の霊長類をヒト老化研究のモデルとして細胞レベルにおいてin vitroの加齢を検討することとした。

ヒヒ連に属するマントヒヒ、カニクイザル、そしてニホンザル流産胎児の腎・脾より初代の線維芽細胞を得た。これらの細胞を10%FCS添加RPMI1640培地にて継代培養し、3代毎にサンプリングを繰り返し、(1)細胞の形態および成長時間、(2)染色体異常の出現頻度、(3)自然DNA鎖切断、(4)変異原処理への反応、(5)タンパク発現パターン、に関して継時的変化を調べた。

細胞の形態は世代を増すにつれて平たく広がり、また、不定形なものが増加した。成長時間は世代を増すにつれて長くなった。線維芽細胞の場合、細胞が増殖してディッシュを覆うと継代し、代数を数えることを通常しているが、ディッシュ上の細胞数を数え補正した値では、3世代ごとの成長時間は世代に対し指数的に増加していた。

染色体数はどの細胞株についても正常である42本を中心にある程度バラつきが見られ、世代や変異原処理に対して規則的な変化は見られなかった。また、染色体の構造異常に関しても、世代間で差は見られなかった。

高分子核DNAを抽出し電気泳動をおこなったところ、ここで用いたヒヒの細胞で、世代の増加によってDNAの切断が観察され、より低分子のDNAが抽出されていた。

細胞質のタンパクを抽出し、SDSポリアクリルアミド電気泳動をおこないタンパクのパターンを